

Изучения Антимикробного Действия Стерильный Липосомальный Композиции С Использованием Жидкого Экстракта *Juniperus Communis* L

1. Тайирова Дилобар Бахтиёровна
2. Шакирова Динора Нейматовна
3. Алланазорова Мохира Бахтияровна

Received 23th Apr 2022,
Accepted 25th May 2022,
Online 18th Jun 2022

1, 2, 3Ташкентский Фармацевтический
институт

dilobartayirova@mail.ru

Аннотация: На основе разработанной технологии был получен сухой экстракт из плодов растения *Juniperus communis* L... В лабораторных условиях нами было изучено антимикробное действие на основе экстракта растения *Juniperus communis* L. под воздействием липосом: титре клеток тест микроорганизмов 105 КОЕ/мл и 109 КОЕ/мл образец с липосомальной композицией показал высокую антимикробную активность против *Candida albicans*, диаметр зоны подавления роста составил 12 и 18 мм, *Staphylococcus aureus* 12 и 14 мм соответственно.

Ключевые слова : Жидкий Экстракт Хвои *Juniperus, Communis* L., Липосома, Микробиологическая Активность Липосомальной Композиции .

Одним из важных аспектов недавно получившее развитие в области наномедицины является применение систем доставки лекарств с помощью наночастиц, которые открывают возможности использовать инновационные подходы к лечению. Нанотехнологии в качестве научной основы для создания систем доставки весьма перспективны именно в случае доставки лекарств. Благодаря их малому размеру, наносистема доставки лекарств является перспективными инструментами направленных терапевтических подходов. [1]

В настоящее время липосомы — одни из наиболее исследованных наночастиц, которые рассматриваются как современные и эффективные средства доставки различных препаратов. Нанотехнологии обеспечивают возможность модифицирует объекты включающие компоненты с размерами менее 100 нм, имеющий принципиально новые качества и позволяющие осуществлять их интеграцию в полноценно системы большего масштаба. Основным ингредиентом липосом является фосфотидилхолин с добавкой других форм фосфолипидов, в том числе отрицательно заряженных липидов что приводит к увеличению объема инкапсулирования лекарственных средств. Липосомы, представляющие собой липидные везикулы с биомолекулярной мембраной, являются многообещающей системой доставкой лекарственных препаратов.

Липосомы в следствие своих нанометрических размеров могут свободно проникать непосредственно в живые клетки и поэтому используется для введения относительного токсичных лекарственных веществ только в пораженные болезнью участки организма, где оказывают максимальное, но не объемное, а местное лечебное воздействие.

Целью данной работы является получение липосомальной композиции из жидкого хвойного экстракта *Juniperus communis* L. Изучение антимикробного действия на основе липосом с экстракт растения *Juniperus communis* L.

Материалы и методы. В качестве растительного сырья использовали плоды *Juniperus communis* L. (Узбекистан, Ташкент), а в качестве экстрагента спирт этиловой 70 %, глицерин в качестве источника осуществлялось подсолнечный лецитин.

Экспериментальная часть. Биологически активные вещества извлекали из растений путем экстракции в 70% растворе этанола.

Для этого в емкость помещали 10 г мелко нарезанных плоды, заливали 100 мл 70% раствором этанола и ставили на паровую баню на 60 мин. Полученную вытяжку остужали до комнатной температуры, доводили до начального объема, отстаивали 24 часа и фильтровали через бумажный фильтр.

Определение антимикробного действия липосомальной композиции полученных на основе экстракта растения *Juniperus communis* L. под воздействием липосомы проводили методом диффузии в агар в отношении некоторых видов бактерий; *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* и гриба *Candida albicans* (ГФ XX1, часть первая стр.194). Все культуры микроорганизмов, получены из коллекции Института микробиологии АН РУз. Определение проводили методом диффузии в агар на плотной питательной среде.

Условия культивирования тест-микроорганизмов для приготовления инокулята

Микроорганизм	Питательная среда	Температура инкубации	Время инкубации посевов
<i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Питательный агар (Himedia), Mueller Hilton agar (TM Media)	32.5± 2.5 ⁰ C	От 18 до 24ч
<i>Candida albicans</i>	Сабуно-агар (Himedia) Mueller Hilton agar (TM Media)	22.5±2.5 ⁰ C	От 44 до 52ч.

Приготовление инокулята

Выросшие культуры тест-штаммов бактерий смывали с поверхности скошенного агара стерильным 0,9% изотоническим раствором натрия хлорида. Используя отечественный стандарт мутности титр клеток тест штаммов условно-патогенных бактерий и грибов разбавляли физиологическим раствором до 10⁵. Для смыва конидий грибов использовали 0.9% раствор натрия хлорида.

Проведение опытов.

В чашки Петри, установленные на столиках со строго горизонтальной поверхностью разливали расплавленную питательную среду в объеме 25 мл для бактерий Питательный агар (Himedia), Mueller Hilton agar (TM Media), для грибов Сабуно агар (Himedia). Чашки подсушивали в

ламинарном боксе. Бактериальную суспензию инокулировали на агар, погрузив стерильный ватный тампон в суспензию тест-микроорганизма, удалив избыток суспензии, отжав тампон о стенки пробирки. Для получения равномерного газона равномерно нанесли инокулят штриховыми движениями на всю поверхность агара. Стерильным металлическим цилиндром, диаметром 0,6 см пробивали лунки на агаре. В лунки каждой чашки вносили равные объёмы 100 мкл испытуемого образца.

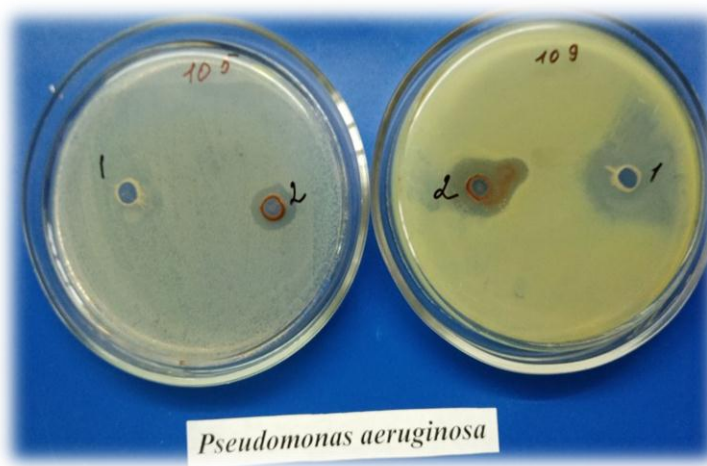
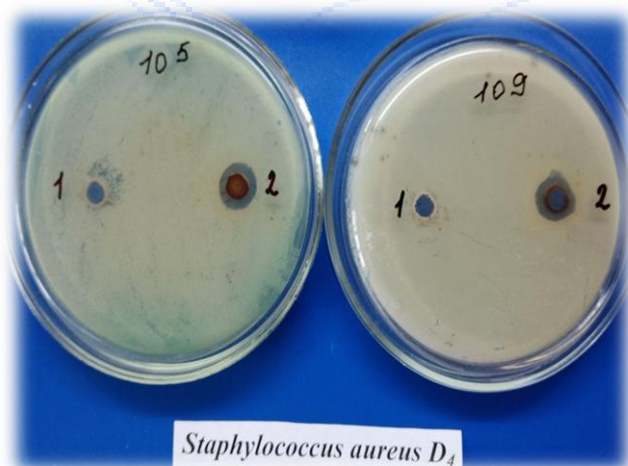
Антимикробную активность образца определяли с титром клеток условно-патогенных микроорганизмов 10^5 и 10^9 .

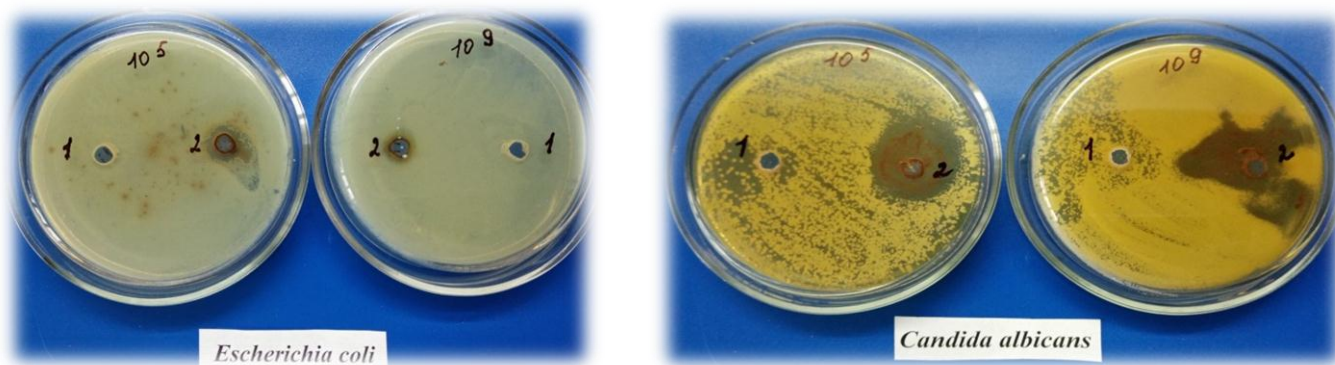
После внесения испытуемый образец, чашки выдерживали в холодильнике в течении 3-4ч. Затем чашки инкубировали в термостате при температуре 36°C в течении 16-18ч. для бактерий, при температуре 25°C в течении 48 -72 часов для грибов. Экспериментально установлено, что образец с наночастицами серебра обладает антимикробной активностью при титре клеток тест микроорганизмов как в 10^9 , так и в 10^5 КОЕ/мл (таблицы 1), диаметр зон подавления роста при титре клеток 10^9 КОЕ/мл. Составил для *Escherichia coli* 10 мм, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* 14мм, для *Candida albicans* 21мм.

Таблица 1

№	Тест штаммы	Зона, мм	
		10^9 КОЕ/мл	10^5 КОЕ/мл
		Липосомальный композиция	Липосомальный композиция
1	<i>Escherichia coli</i>	10	8
2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	12
3	<i>Staphylococcus aureus</i>	12	14
4	<i>Candida albicans</i>	12	18

1– липосомальная композиция





Заключение. Установлено, что при титре клеток тест микроорганизмов 10^5 КОЕ/мл и 10^9 КОЕ/мл образец с липосомальной композицией показал высокую антимикробную активность против *Candida albicans*, диаметр зоны подавления роста составил 12 и 18 мм, *Staphylococcus aureus* 12 и 14 мм соответственно.

Определение микробиологической чистоты образцов.

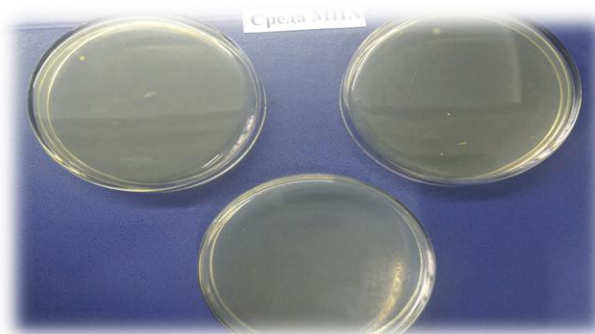
Нестерильные средства (субстанции, различные формы препаратов, а также вспомогательные вещества) могут быть контаминированы микроорганизмами. В них допускается наличие лимитированного количества микроорганизмов, при отсутствии определенных видов бактерий, представляющих опасность для здоровья человека.

Испытание на микробиологическую чистоту образца с липосомальной композицией проводили по (ГФ XXI, часть первая стр.194). Количественное определение жизнеспособных бактерий и грибов, а также выявление определенных видов микроорганизмов (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*), наличие которых недопустимо в нестерильных средствах проводили по СанПиНу (СанПиН №0340-16).

Определение общего числа бактерий: Испытание проводили глубинным агаровым методом в чашках Петри. Образцы в количестве 5 мл (гр) растворяют в фосфатном буферном растворе pH 7,0 в количестве 50 мл. Приготовленный раствор образца вносят по 1 мл в чашку Петри. Сверху заливали охлажденным до 40-45°C питательным агаром. Быстрым покачиванием чашки равномерно перемешиваем. После застывания среды, чашки переворачивают и инкубируют 5 суток при температуре 35°C. Через 48 ч и окончательно через 5 суток подсчитывали число бактериальных колоний на трех чашках, находили среднее значение и умножали его на показатель разведения, вычисляли число бактерий в 1 мл образца.

Результаты:

1. Липосомальная композиция - 20 клеток бактерий в 1 мл. образца.



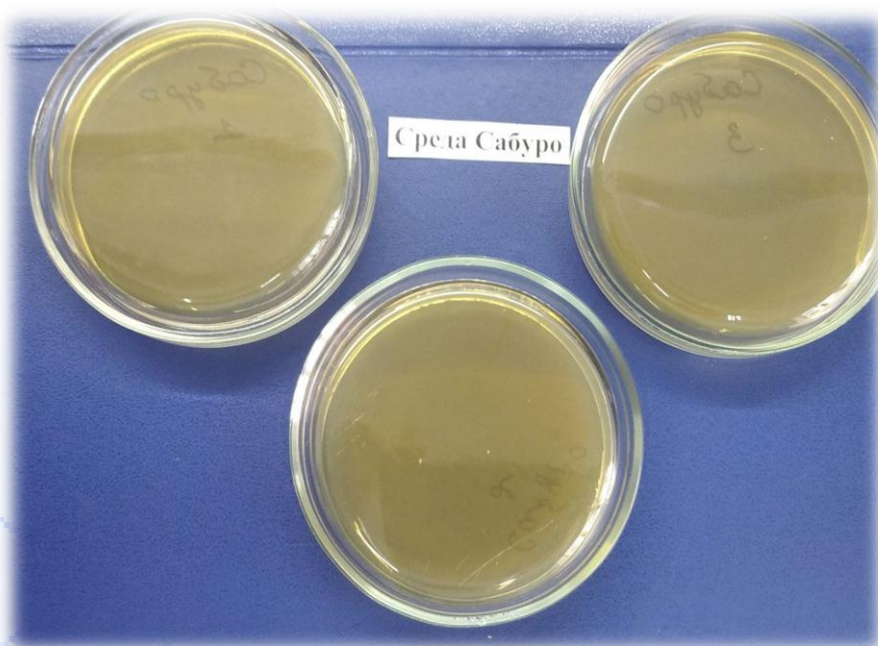
Общее числа бактерий на среде МПА (образец липосомальная композиция)

Определение общего числа грибов. Испытание проводили глубинным агаровым методом в чашки Петри, описанным выше, используя среду Сабуро. Посевы инкубировали в течение 5 суток при температуре 20°C. Через 5 суток подсчитывали общее число колоний дрожжевых и плесневых грибов на трех чашках, находят среднее значение и умножали его на показатель разведения, т.е. на 10, вычисляли число грибов в 1мл образца.

Результаты:

1. Липосомальная композиция - обнаружено 10 клеток грибов в 1мл образца.

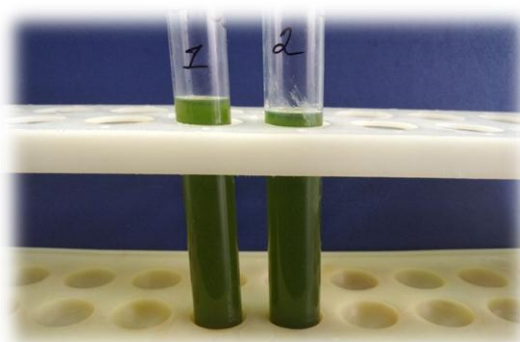
\



Общее числа грибов на среде Сабуро (образец липосомальная композиция)

Выявление в образцах бактерий семейства *Enterobacteriaceae*. Образец (липосомальная композиция) в количестве 2 мл вносили в 20 мл питательной среды по Мосселю (Himedia) в двух повторностях, перемешивали и инкубировали при температуре 35°C в течение 48 ч. На среде Мосселя рост не обнаружен, среда не поменяла окраску с зеленого на темно желтый.

Заключение: Образец, липосомальная композиция, не контаминирована бактериями семейства *Enterobacteriaceae*.

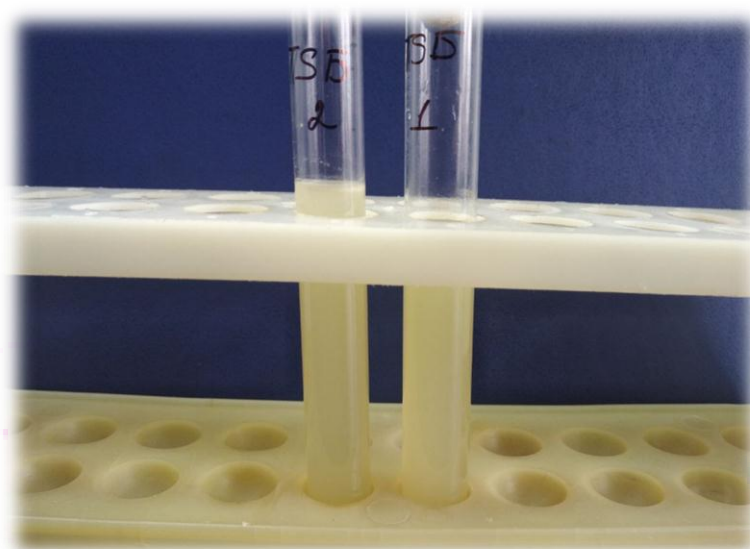


Выявление в образцах бактерий семейства *Enterobacteriaceae*.

Выявление в образцах *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Исследуемый образец (липосомальная композиция), переносили в количестве 1 мл в 10 мл жидкой питательной среды (соево-казеиновый бульон), перемешивали и инкубировали в течение 24-48 ч. Через 48ч. культивирования на среде рост не обнаружен.

Заключение: Образец, липосомальная композиция, не контаминирована бактериями *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.



Выявление в образцах *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*

Выводы. Данные анализа подтвердили что , при титре клеток тест микроорганизмов 10^5 КОЕ/мл и 10^9 КОЕ/мл образец с липомомалный композиции показал высокую антимикробную активность против *Candida albicans*, диаметр зоны подавления роста составил 12 и 18 мм, *Staphylococcus aureus* 12 и 14 мм соответственно.

Overall , it can be concluded that liposomal composition can be a promising raw material for the production of drugs with antibacterial and antioxidant properties and use for scientific purposes for the development of liposomal compositions and its dosage form can be used to create dosage forms for articular disease.

REFERENCES

1. A.I. Gusev. Nanomaterials, nanostructures, nanotechnology. - М .: Fizmatlit, 2007.416 p.
2. Alf Lamprecht. Nanotherapeutics . Drug delivery concepts in nanoscience . world of science . 2010 y . UDK . 61553.52 . p 223
3. Antibacterial properties and the mechanism of bactericidal action of nanoparticles and silver ions, obtaining antibacterial textile materials based on silver nanoparticles by modifying the surface of textiles with non-equilibrium low-temperature plasma / Yu.A. Bukina, E.A. Sergeeva // Bulletin of Kazan Technological University. - 2012. - No. 7. - P. 125 - 128.
4. Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using ficus Benghalensis leaf extract / Kantaro Saware, Balate Sawle and others. IJRET,May-2014, ISSN: 2319-1163, Volume:05, Issue:05 , p 867.

5. Nanoparticles and nanostructured films: Preparation, characterization and applications / ed. Fendler J.H. New York: John Wiley & Sons, 1998.463 p.
6. M.G. Ismailova, I.B. Shermatova, P.L. Ismailova, U.J. Ishimov, Study of the role of some *Scutellaria Iscandaria* L. extract's flavonoids on nanosilver synthesis, *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2020, 8 (2): P. 19-25.
7. Е.Т. Желякьва, О.О. Новиков, Д.И. Писеров, Исследование эфирного масла шишкоягод *Juniperus Communis* различного происхождения в рамках научного направления и фармацевтический ремейк. «Современные проблемы науки и образования » журнал №4 12,08,2015 .
8. Mozafari, M.R., Johnson, C., Hatziantoniou, S. & Demetzos, C. (2008) Nanoliposomes and their applications in food nanotechnology. *Journal of Liposome Research*. 18 (4), 309-327.
9. Свистельник А.В., Ханин А.Л. Липосомальные лекарственные препараты : возможности и перспективы . Т 13 №2 2014 . Стр 7
10. Riaz M. Liposome preparation method // *Pak J Pharm Sci.*, 1996, № 9, p.65–77.

